

ISSN 1561-8323 (Print)  
ISSN 2524-2431 (Online)

## МЕДИЦИНА MEDICINE

УДК 575.174.015.3:616.72-002.053  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-2-209-216>

Поступило в редакцию 09.03.2020  
Received 09.03.2020

**А. А. Яцкив<sup>1</sup>, М. В. Злотникова<sup>2</sup>, академик А. В. Сукало<sup>3</sup>, Р. И. Гончарова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

### ХАРАКТЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СПЕКТРОВ HLA-АЛЛЕЛЕЙ КЛАССОВ I И II У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ КЛИНИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ЮВЕНИЛЬНОГО ИДИОПАТИЧЕСКОГО АРТРИТА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

**Аннотация.** Гены главного комплекса гистосовместимости HLA играют существенную роль в генетической предрасположенности к ювенильному идиопатическому артриту (ЮИА) и определяют до 18 % риска развития заболевания. Учитывая гипервариабельность генов HLA и специфичность их аллельных спектров в зависимости от популяции, представляло интерес провести HLA-типирование пациентов с ЮИА, проживающих на территории Республики Беларусь, для установления аллелей, ассоциированных с отдельными клиническими формами заболевания. В работе с помощью высокопроизводительного секвенирования нового поколения (Illumina) для 48 детей с системным и олигоартрикулярным подтипами ЮИА и контрольной группы ( $n = 24$ ) был определен спектр HLA-аллелей по 11 локусам (*HLA-A, B, C, DP41, DPB1, DQA1, DQB1, DRB1/3/4/5*). Установлено, что аллели *HLA-DQB1\*04:02:01* (OR 5,88 [1,20–28,72],  $p = 0,026$ ), *HLA-DRB1\*08:01:01* (OR 3,94 [1,01–15,39],  $p = 0,07$ ) и гаплотип DR8 (OR 3,95 [1,34–11,63],  $p = 0,006$ ) ассоциированы с риском возникновения олигоартрикулярного ЮИА. Выявлены аллели, снижающие риск развития системной формы заболевания (*HLA-DRB1\*03:01*, OR 0,11 [0,01–0,88],  $p = 0,03$ ), либо оказывающие протективный эффект по отношению к обеим рассматриваемым формам ЮИА (*DQA1\*05:01:01* (OR 0,08 [0,009–0,65],  $p = 0,007$  и OR 0,16 [0,03–0,79],  $p = 0,026$ ) и *DQB1\*02:01:01* OR 0,09 [0,01–0,83],  $p = 0,01$  и OR 0,20 [0,04–1,00],  $p = 0,046$  для системного и олигоартрикулярного ЮИА соответственно). Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что в формировании различных клинических форм ЮИА задействованы различные HLA-паттерны.

**Ключевые слова:** ювенильный идиопатический артрит, главный комплекс гистосовместимости, генетический полиморфизм

**Для цитирования:** Характерные особенности спектров HLA-аллелей классов I и II у пациентов с различными клиническими формами ювенильного идиопатического артрита в Республике Беларусь / А. А. Яцкив [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 2. – С. 209–216. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-2-209-216>

**Hanna A. Yatskiu<sup>1</sup>, Maryia V. Zlotnikova<sup>2</sup>, Academician Alexandr V. Sukalo<sup>3</sup>, Roza I. Goncharova<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnology, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

### CHARACTERISTIC SPECTRA OF CLASS I AND II HLA-ALLELES IN PATIENTS WITH DIFFERENT CLINICAL FORMS OF JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS IN THE REPUBLIC OF BELARUS

**Abstract.** The genes of the major histocompatibility complex (HLA) play a significant role in the genetic predisposition to juvenile idiopathic arthritis (JIA) and determine up to 18 % of disease risk. This work was aimed to reveal associations of the HLA characteristic pattern with two clinically different forms of JIA in the Belarusian population. 24 patients diagnosed with systemic JIA, 24 patients with oligoarticular JIA and 24 healthy controls were included into the study. High-throughput HLA typing for 11 loci was performed using TruSight HLA v2 Sequencing Panel (Illumina) on the MiSeq system. *DQB1\*04:02:01* ( $p = 0.026$ ; OR 5.88 [1.20–28.72]), *DRB1\*08:01:01* ( $p = 0.07$ ; OR 3.94 [1.01–15.39]) and DR8-haplotype ( $p =$

0.006; OR 3.95 [1.34–11.63]) frequencies were significantly higher in patients with oligoarthritis but not systemic JIA when compared with controls. While *DQA1\*05:01:01* and *DQB1\*02:01:01* alleles showed a protective effect against both systemic ( $p = 0.007$ , OR 0.08 [0.009–0.65];  $p = 0.01$ , OR 0.09 [0.01–0.83]) and oligoarticular JIA ( $p = 0.026$ , OR 0.16 [0.03–0.79];  $p = 0.046$ , OR 0.2 [0.04–1.00]), the negative association of the *DRB1\*03:01* allele was revealed only for systemic JIA ( $p = 0.03$ , OR 0.11 [0.01–0.88]). Thus, the obtained results suggest that different HLA-patterns are involved into the formation of various JIA subtypes.

**Keywords:** juvenile idiopathic arthritis, Major Histocompatibility Complex, genetic polymorphism

**For citation:** Yatskiu H. A., Zlotnikova M. V., Sukalo A. V., Goncharova R. I. Characteristic spectra of class I and II HLA-alleles in patients with different clinical forms of juvenile idiopathic arthritis in the Republic of Belarus. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 2, pp. 209–216 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-2-209-216>

**Введение.** Согласно данным ВОЗ, доля населения, страдающего от патологии опорно-двигательного аппарата, может достигать 33 %. Из этой группы заболеваний в детском и подростковом возрасте до 16 лет наиболее распространенным является ювенильный идиопатический артрит (ЮИА). ЮИА относится к многофакторным заболеваниям и в связи с гетерогенностью клинической картины разделяется на семь фенотипических подтипов [1]. Предполагают, что в этиопатогенезе ЮИА значительная роль принадлежит различным компонентам иммунной системы. Так, характерный для ЮИА отек суставов вызывается скоплением синовиальной жидкости и утолщением синовиальной оболочки, которая инфильтрирована нейтрофилами, плазматическими клетками и активированными Т-лимфоцитами. Особенностью последних является то, что они способны распознавать антигены только в контексте молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС, англ. Major Histocompatibility Complex) на поверхности антиген-презентирующих клеток. МНС, также известный как HLA (лейкоцитарный антиген человека, англ. Human Leukocyte Antigen), – высокополиморфный участок генома, расположенный на коротком плече хромосомы 6 (6p21.3), в котором насчитывают более 200 генов, разделенных на три класса. Гликопротеины класса I присутствуют в клеточных мембранах практически всех ядросодержащих клеток и, прежде всего, служат для презентации вирусных антигенов цитотоксическим Т-лимфоцитам. Молекулы класса II экспонируют антигены внеклеточного пространства CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитам и обнаруживаются только на поверхности антигенпрезентирующих клеток. Продукты генов класса III не задействованы в обеспечении гистосовместимости и процессах презентации и представлены факторами системы комплемента, некоторыми цитокинами и белками теплового шока [2].

Влияние генетической изменчивости HLA на предрасположенность к многофакторным заболеваниям неоднократно показано посредством GWAS (полногеномный поиск ассоциаций, англ. Genome Wide Association Study). На сегодняшний день с генами HLA связывают около 100 аутоиммунных и воспалительных заболеваний, в том числе диабет 1-го типа, ревматоидный артрит (РА), анкилозирующий спондилит, целиакию и др. [3]. По некоторым данным, гены данного комплекса определяют до 18 % риска развития ЮИА [4].

Вследствие высокой степени полиморфизма генов HLA-комплекса, распространенность различных аллелей в популяциях неодинакова: в то время как некоторые варианты встречаются повсеместно, другие ограничены тем или иным географическим регионом. На сегодняшний день гипервариабельность данной области генома стала особенно очевидна: из небольшой системы, насчитывающей менее 100 антигенов, количество HLA-аллелей за последние 20 лет выросло до многих тысяч и продолжает увеличиваться приблизительно на 2000 новых аллелей ежегодно. Такой прогресс обусловлен возрастанием разрешающей способности методов HLA-типирования – с переходом от серологических методов, не позволяющих в полной мере оценить разнообразие антигенов класса II из-за ограниченных паттернов их экспрессии, к молекулярному типированию, основанному на секвенировании ДНК, в том числе с помощью высокопроизводительных технологий нового поколения. Последние обеспечивают возможность идентификации аллеля с точностью до четырех и более цифр: первые две обозначают серологическую группу аллелей, которая соответствует определенному антигену, две последующие цифры обозначают непосредственно аллель, пятая и шестая – указывают на наличие замен в экзонах или интронах.

Цель данной работы заключалась в установлении с помощью высокопроизводительного секвенирования спектра HLA-аллелей классов I и II, характерных для проживающих на территории Республики Беларусь пациентов с различными клиническими формами ЮИА.

**Материалы и методы исследования.** HLA-типирование методом NGS было проведено для 72 образцов. Из них 48 получены от пациентов с клинически установленным в соответствии с критериями ILAR [1] системным ( $n = 24$ ) и олигоартрикулярным ( $n = 24$ ) ЮИА и 24 – от условно здоровых детей без аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний (контроль). Сбор биологического материала (периферическая венозная кровь) осуществлялся медицинским персоналом на базе УЗ «2-я городская детская клиническая больница» Минска после получения письменного информированного согласия родителей. Кроме того, в качестве контроля служили данные HLA-типирования с применением технологий SSO (Sequence-Specific Oligonucleotide) и SSP (Sequence-Specific Primer), полученные лабораторией HLA-типирования органов и тканей ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» для 49 доноров при трансплантации сердца (практически здоровые люди в возрасте от 20 до 45 лет, получившие черепно-мозговые травмы в результате ДТП).

Таргетное HLA-типирование высокого разрешения проводили на приборе MiSeq (Illumina) в режиме парных прочтений в формате кластерного секвенирования путем синтеза. Для единовременного анализа 11 HLA-локусов (*HLA-A, B, C, DPA1, DPB1, DQA1, DQB1, DRB1/3/4/5*) использовали набор реагентов TruSight HLA v2 Sequencing Panel (Illumina). Подготовка библиотек осуществлялась в соответствии с протоколом производителя. Полученные .fastq-файлы анализировали в программе Assign TruSight HLA v2.0 (Illumina).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 7.0 (Statsoft). Для установления достоверности различий исследуемых групп по частоте распространенности выявленных аллелей применяли двусторонний точный критерий Фишера и рассчитывали показатели отношения шансов (odds ratio, OR) с 95 %-ным доверительным интервалом (95 % Confidential Interval, CI).

**Результаты и их обсуждение.** По результатам данного исследования выявлены: 21 аллель по локусу *HLA-A*, 32 – по локусу *HLA-B*, 15 – по локусу *HLA-C*, 3 – по локусу *HLA-DPA1*, 10 – по локусу *HLA-DPB1*, по 13 аллелей – для *HLA-DQA1* и *DQB1*, 21 – для *DRB1*, 4 – для *DRB3*, 5 – для *DRB4* и 2 – для *DRB5*. В табл. 1 представлены данные по числу выявленных аллелей в пределах каждой из исследуемых групп. Во всех случаях максимальное количество аллельных вариантов было зафиксировано для локуса *HLA-B*.

Таблица 1. Количество идентифицированных по HLA-локусам аллелей в группах пациентов с различными подтипами ЮИА и в контрольной группе

Table 1. Number of the identified within HLA loci alleles in the groups of patients with different JIA subtypes and in controls

Локус HLA HLA locus	Количество обнаруженных аллелей в пределах отдельных групп Number of the identified alleles within separate groups		
	Системный артрит Systemic Arthritis	Олигоартрит Oligoarthritis	Контроль Controls
<i>A</i>	16	11	15
<i>B</i>	23	21	21
<i>C</i>	13	13	12
<i>DPA1</i>	3	2	1
<i>DPB1</i>	10	6	7
<i>DQA1</i>	13	10	11
<i>DQB1</i>	12	11	13
<i>DRB1</i>	18	13	15
<i>DRB3</i>	4	2	3
<i>DRB4</i>	3	2	3
<i>DRB5</i>	2	2	2

В контрольной группе детей наиболее распространенными вариантами аллелей в каждом из локусов были: *A\*02:01:01* (31,3 %), *B\*07:02:01* (13,6 %) и *B\*08:01:01* (13,6 %), *C\*07:01:01* (19,4 %), *DPA1\*01:03:01* (90,0 %), *DPB1\*04:01:01* (52,9 %), *DQA1\*05:01:01* (21,7 %), *DQB1\*02:01:01* (19,0 %) и *DQB1\*03:01:01* (19,0 %), *DRB1\*07:01:01* (16,7 %), *DRB3\*01:01:02* (25,0 %), *DRB4\*01:03:01* (16,6 %), *DRB5\*01:01:01* (14,6 %) соответственно. По имеющимся данным можно заключить, что установленные значения частот аллелей исследованных HLA-генов сопоставимы со значениями, характерными для европейских популяций (табл. 2) [5; 6].

Т а б л и ц а 2. Частоты встречаемости наиболее распространенных HLA-аллелей в популяциях европейского происхождения

Table 2. Common HLA-alleles frequencies in the populations of European origin

Популяция Population	Аллель Allele	Частота, % Frequency, %	Источник Reference
CEU*	<i>A*02:01</i>	32,8	[5]
CEU	<i>B*07:02</i>	18,3	
CEU	<i>B*08:01</i>	13,9	
CEU	<i>C*07:01</i>	17,8	
CEU	<i>DQA*05:01</i>	17,8	
CEU	<i>DQB*02:01</i>	15,6	
CEU	<i>DQB*03:01</i>	16,7	
USA San Francisco Caucasian	<i>DRB3*01:01:02</i>	18,0	[6]
USA San Francisco Caucasian	<i>DRB5*01:01:01</i>	16,1	

П р и м е ч а н и е. \* – CEU – северного и западного европейского происхождения.

Not e. \* – CEU – Northern and Western European Ancestry.

В Республике Беларусь на небольшой выборке пациентов с РА, серопозитивных по антителам к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), и их родственников ранее был определен спектр аллелей гена *HLA-DRB1* [7]. Однако РФ-положительный подтип ЮИА, наиболее схожий с РА взрослых, составляет всего около 5 % от всех случаев [8].

Изучение спектра аллелей *HLA*-генов класса I и II у детского населения Республики Беларусь представляет собой отдельную задачу. Интенсивные исследования последних лет убедительно показали наличие ассоциаций ряда *HLA*-аллелей с возникновением ЮИА. Их вклад в генетическую предрасположенность к этому заболеванию у детей оценивается на уровне 13–18 % [4]. Помимо аллелей риска выявлены аллельные варианты, связанные с возрастом манифестации ЮИА [9], а также с наличием отдельных клинических проявлений, в частности, поражением глаз [10].

В настоящей работе при выборе подтипов ЮИА для молекулярно-генетического анализа исходили из того, что профиль генетической изменчивости при РФ-негативном полиартрите (*A\*02*, *DRB1\*08*, *DQA1\*04*) достаточно сильно перекрывается с ее профилем при олигоартрите [8], а также учитывали особенности течения различных типов ЮИА – для системной формы характерен высокий риск инвалидизации и развития тяжелых состояний типа синдрома активации макрофагов, поражений легких и сердца, тогда как у больных с персистирующим олигоартритом функциональная способность сохраняется в большей степени [11].

Сравнительный анализ результатов HLA-типирования в исследуемых группах выявил некоторые различия в распространенности аллельных вариантов в локусах *HLA-A*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1* (табл. 3).

Как видно из данных таблицы, большая часть установленных ассоциаций относится к *HLA*-аллелям генов класса II (*HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1*), что не противоречит результатам, полученным на других популяциях [12]. В исследуемой выборке аллели *A\*02:01:01* (OR 0,39 [0,15–0,96],  $p = 0,047$ ), *DQB1\*04:02:01* (OR 0,25 [0,06–0,97],  $p = 0,068$ ), *DRB1\*08:01:01* (OR 0,16 [0,03–0,82],  $p = 0,027$ ) у детей с системным ЮИА встречались со значительно меньшей частотой, чем среди детей с олигоартритом. При сравнении групп пациентов с контролем обнаружены аллели, повышающие риск развития олигоартикулярного ЮИА (*DQB1\*04:02:01* (OR 5,88 [1,20–

Таблица 3. Перечень статистически значимых различий частот распространенности HLA-аллелей в группах пациентов с различными подтипами ЮИА и в группе контроля

Table 3. A list of statistically significant differences in the HLA-alleles frequencies in the groups of patients with different JIA subtypes and in controls

Локус HLA HLA locus	Аллель Allele	Системный артрит, % Systemic Arthritis, %	Олигоартрит, % Oligoarthritis, %	Контроль, % Control, %	OR [95 % CI]; <i>p</i>
<i>A</i>	<i>*02:01:01</i>	21,7	41,7	31,3	<sup>1</sup> 0,39 [0,15–0,96]; 0,047
					<sup>2</sup> 0,61 [0,24–1,54]; 0,35
					<sup>3</sup> 1,57 [0,68–3,63]; 0,39
<i>DQA1</i>	<i>*05:01:01</i>	2,2	4,3	21,7	<sup>1</sup> 0,49 [0,04–5,58]; 1,0
					<sup>2</sup> 0,08 [0,009–0,65]; 0,007
					<sup>3</sup> 0,16 [0,03–0,79]; 0,026
<i>DQB1</i>	<i>*02:01:01</i>	2,3	4,5	19,0	<sup>1</sup> 0,49 [0,04–5,59]; 0,99
					<sup>2</sup> 0,09 [0,01–0,83]; 0,01
					<sup>3</sup> 0,20 [0,04–1,00]; 0,046
	<i>*04:02:01</i>	6,8	22,8	4,8	<sup>1</sup> 0,25 [0,06–0,97]; 0,068
					<sup>2</sup> 1,46 [0,23–9,23]; 1,0
					<sup>3</sup> 5,88 [1,20–28,72]; 0,026
<i>DRB1</i>	<i>*03:01:01</i>	2,1	4,2	8,3	<sup>1</sup> 0,50 [0,04–5,70]; 1,0
					<sup>2</sup> 0,12 [0,01–1,05]; 0,058
					<sup>3</sup> 0,25 [0,05–1,29]; 0,16
	<i>*03:01</i>	2,1	4,2	10,4	<sup>1</sup> 0,50 [0,04–5,70]; 1,0
					<sup>2</sup> 0,11 [0,01–0,88]; 0,03
					<sup>3</sup> 0,22 [0,04–1,08]; 0,09
	<i>*08:01:01</i>	4,3	20,8	6,3	<sup>1</sup> 0,16 [0,03–0,82]; 0,027
					<sup>2</sup> 0,65 [0,10–4,09]; 0,68
					<sup>3</sup> 3,94 [1,01–15,39]; 0,07
	<i>*08:01</i>	8,6	20,8	6,3	<sup>1</sup> 0,34 [0,1–1,19]; 0,14
					<sup>2</sup> 1,36 [0,28–6,44]; 1,0
					<sup>3</sup> 3,94 [1,01–15,39]; 0,07

Примечания: <sup>1</sup> – системный артрит vs. олигоартрит; <sup>2</sup> – системный артрит vs. контроль; <sup>3</sup> – олигоартрит vs. контроль.

Notes: <sup>1</sup> – Systemic Arthritis vs. Oligoarthritis; <sup>2</sup> – Systemic Arthritis vs. Controls; <sup>3</sup> – Oligoarthritis vs. Controls.

28,72],  $p = 0,026$ ), *DRB1\*08:01:01* (OR 3,94 [1,01–15,39],  $p = 0,07$ )). Кроме того, выявлены аллели, показавшие протективный эффект либо только по отношению к системному подтипу ЮИА (*DRB1\*03:01* (OR 0,11 [0,01–0,88],  $p = 0,03$ )), либо к обоим рассматриваемым формам заболевания (*DQA1\*05:01:01* (OR 0,08 [0,009–0,65],  $p = 0,007$  и OR 0,16 [0,03–0,79],  $p = 0,026$ ) и *DQB1\*02:01:01* (OR 0,09 [0,01–0,83],  $p = 0,01$  и OR 0,20 [0,04–1,00],  $p = 0,046$ ) для системного и олигоартрикулярного ЮИА соответственно).

На сегодняшний день известно, что аллель *A\*02* ассоциирован с различными подтипами ЮИА, в особенности в случае раннего дебюта заболевания [13]. В целом наибольшее количество значимых эффектов HLA-аллелей класса II выявлено для олигоартрита: *DRB1\*01*, *DRB1\*08*, *DRB1\*11*, *DRB1\*13*, *DPB1\*02*, *DQB1\*04* и *DQA1\*04* связаны с повышенной восприимчивостью к данному подтипу ЮИА, а *DRB1\*04* и *DRB1\*07* обладают протективным действием [12]. В большом исследовании Hollenbach и др., в котором применялось HLA-типирование высокого разрешения, показано, что HLA-*DRB1\*11:03/11:04* ассоциирован с риском развития олигоартрикулярного ЮИА и полиартрикулярного РФ-негативного ЮИА в возрасте до 6 лет, в то время как HLA-*DRB1\*08:01* проявлял рискованный, а HLA-*DRB1\*15:01* – сильный протективный эффект в отношении обоих подтипов ЮИА вне зависимости от возраста пациентов [9]. Таким образом, наши данные о более высокой частоте распространенности аллелей *A\*02:01:01*, *DQB1\*04:02:01*, *DRB1\*08:01:01* в группе детей с олигоартритом согласуются с результатами, ранее полученными на других популяциях. Что касается системного варианта течения ЮИА, в нашей работе для этого подтипа удалось

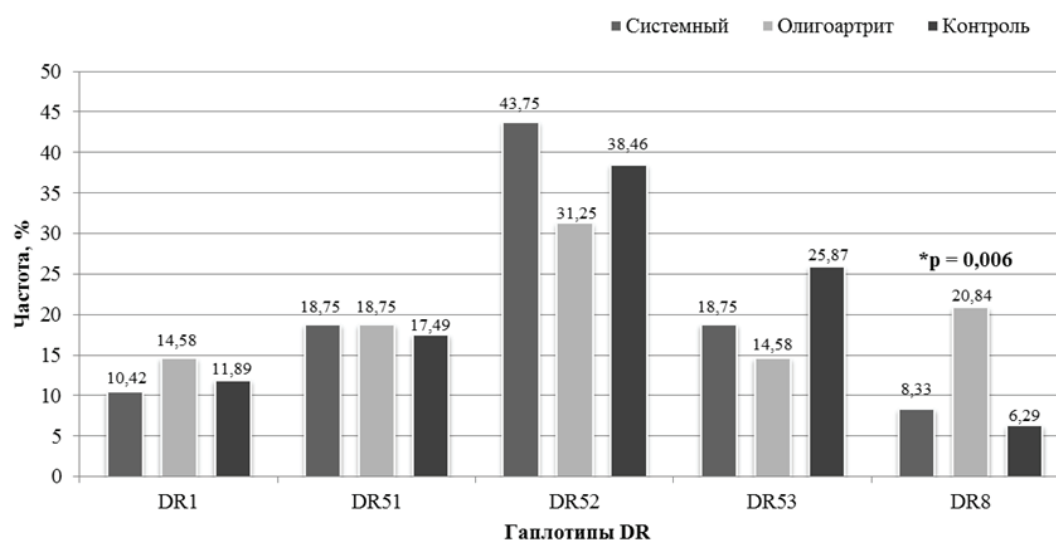


выявить аллель *DRB1\*03:01*, предположительно показывающий протективный эффект, в то время как для данного подтипа ранее были обнаружены только аллели риска: *DRB1\*04*, *DRB1\*11*, *DQA1\*06* [12]. В некоторых работах были выявлены протективные аллели (*HLA-DQA1\*03*, *HLA-DQA1\*02*), общие для псориатического артрита, персистирующего и распространившегося олигоартрита, а также гаплотипы *DRB1\*04-DQA1\*03-DQB1\*03* и *DRB1\*0701-DQA1\*02-DQB1\*02*, снижающие риск развития олигоартрикулярного подтипа ЮИА [14]. Полученные в нашем исследовании данные также свидетельствуют о негативной ассоциации некоторых аллелей генов *DQA1* и *DQB1* с ЮИА. Следует отметить, что сведения о роли аллельных вариантов гена *DQA1* в формировании предрасположенности к ЮИА достаточно противоречивы: так, Thomson и др. показали, что *DQA1\*05* ассоциирован как с персистирующим олигоартритом (OR 2,6), так и с системным артритом (OR 2,5) [14], в то время как в группе пациентов с ЮИА, проживающих в Республике Беларусь, аллель *DQA1\*05:01:01*, напротив, встречается значительно реже, чем в контроле. Вероятно, это можно объяснить применением различных методов HLA-типирования: в работе Thomson и др. использовали PCR-SSOP и для *DQA1* в основном были установлены только аллельные группы (первые две цифры), тогда как в нашем исследовании применялся более точный метод с применением NGS, что позволило в подавляющем большинстве случаев определить аллели с точностью до шестой цифры, т. е. на уровне специфической кодирующей последовательности (CDS). Кроме того, наши данные о негативной ассоциации аллеля *DQA1\*05:01:01* с ЮИА согласуются с результатами, полученными J. Rousseau и др. на выборке смешанного происхождения из Южной Африки. Было показано, что *DQA1\*05:01* снижает риск развития РА (RR 0,4 [0,3–0,7],  $p < 0,001$ ) [15].

В зависимости от идентифицированных аллелей гена *HLA-DRB1*, проанализированные образцы были сгруппированы по пяти главным семействам DR-гаплотипов (DR1, DR51, DR52, DR53 и DR8), выделенных на основе полиморфизма серологической специфичности [16]. На этом этапе контрольная группа была увеличена за счет результатов HLA-типирования с применением технологий SSO и SSP, полученных лабораторией HLA-типирования органов и тканей Республиканского научно-практического центра трансфузиологии и медицинских биотехнологий.

При сравнении групп пациентов с обобщенной контрольной выборкой (рисунок) установлено, что гаплотип DR8 ассоциирован с олигоартрикулярным подтипом ЮИА (OR 3,95 [1,34–11,63],  $p = 0,006$ ).

DR8-гаплотип характеризуется наличием только одного *DRB*-гена – *DRB1*, экспрессирующего группу аллелей *DRB1\*08*. Именно для аллелей этой группы выявлена наиболее ярко выраженная



\* OR [95%CI] = 3,92 [1,48–10,33]

Распространенность DR-гаплотипов в исследуемых группах  
DR-haplotype frequencies in the studied groups

ассоциация с ЮИА, в основном с персистирующим и распространенным олигоартритом, а также серонегативным полиартритом [9; 12; 14]. Полученные нами данные (табл. 2) указывают на то, что аллель *DRB1\*08:01:01* задействован в формировании предрасположенности к олигоартрикулярному подтипу ЮИА у детского населения Республики Беларусь.

**Заключение.** Посредством высокопроизводительного секвенирования для пациентов с ЮИА, проживающих на территории Республики Беларусь, выявлены HLA-аллели, ассоциированные с риском возникновения олигоартрикулярного подтипа заболевания (*HLA-DQB1\*04:02:01*, *HLA-DRB1\*08:01:01* и гаплотип DR8) и снижением вероятности развития системной формы ЮИА (*HLA-DRB1\*03:01*). Кроме того, обнаружен ряд аллелей, оказывающих протективный эффект по отношению к обеим формам заболевания (*HLA-DQA1\*05:01:01*, *HLA-DQB1\*02:01:01*). При этом олигоартрикулярный и системный подтипы ЮИА характеризуются специфичными спектрами аллельных вариантов генов главного комплекса гистосовместимости в локусах *HLA-A*, *HLA-DQB1* и *HLA-DRB1*. Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что в формировании различных клинических форм ЮИА задействованы неодинаковые HLA-паттерны.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках задания 6.4 С-Г НТП Союзного государства «ДНК-идентификация».

**Acknowledgments.** The study was performed within the framework of task 6.4 C-G Scientific and Technical Program of the Union State “DNA identification”.

### Список использованных источников

1. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001 / R. E. Petty [et al.] // J. Rheumatol. – 2004. – Vol. 31, N 2. – P. 390–392.
2. The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease / T. Shiina [et al.] // J. Hum. Genet. – 2009. – Vol. 54. – P. 15–39.
3. The MHC locus and genetic susceptibility to autoimmune and infectious diseases / V. Matzaraki [et al.] // Genome Biology. – 2017. – Vol. 18, N 1. – Art. 76. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1207-1>
4. Dense genotyping of immune-related disease regions identifies 14 new susceptibility loci for juvenile idiopathic arthritis / A. Hinks [et al.] // Nat. Genet. – 2013. – Vol. 45, N 6. – P. 664–669. <https://doi.org/10.1038/ng.2614>
5. HLA [Electronic Resource] // SNPedia. – Mode of access: <https://www.snpedia.com/index.php/HLA>. – Date of access: 03.02.2020.
6. Allele Frequency Net Database [Electronic Resource]. – Mode of access: <http://www.allelefrequencies.net/default.asp>. – Date of access: 03.02.2020.
7. Частота HLA-DRB1 аллелей и генотипов у пациентов с АЦЦП-позитивным вариантом ревматоидного артрита и их родственников 1-й и 2-й степеней родства / Е. А. Аксенова [и др.] // Молекулярная и прикладная генетика. – Минск, 2016. – Т. 20. – С. 55–60.
8. Fine-mapping the MHC locus in juvenile idiopathic arthritis (JIA) reveals genetic heterogeneity corresponding to distinct adult inflammatory arthritic diseases / A. Hinks [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2017. – Vol. 76, N 4. – P. 765–772. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-210025>
9. Juvenile idiopathic arthritis and HLA class I and class II interactions and age-at-onset effects / J. A. Hollenbach [et al.] // Arthritis Rheum. – 2010. – Vol. 62, N 6. – P. 1781–1791. <https://doi.org/10.1002/art.27424>
10. HLA associations in a cohort of children with juvenile idiopathic arthritis with and without uveitis / S. T. Angeles-Han [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2015. – Vol. 56, N 10. – P. 6043–6048. <https://doi.org/10.1167/iov.15-17168>
11. Салугина, С. О. Функциональный статус и качество жизни взрослых больных ювенильным артритом при длительном течении заболевания / С. О. Салугина // Современная ревматология. – 2011. – Т. 5, № 1. – С. 33–39.
12. Prahalad, S. A comprehensive review of the genetics of juvenile idiopathic arthritis / S. Prahalad, D. N. Glass // Pediatr. Rheumatol. – 2008. – Vol. 6, N 1. – Art. 11. <https://doi.org/10.1186/1546-0096-6-11>
13. Age-specific effects of juvenile rheumatoid arthritis-associated HLA alleles / K. J. Murray [et al.] // Arthritis & Rheumatism. – 1999. – Vol. 42, N 9. – P. 1843–1853. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(199909\)42:9%3C1843::aid-anr8%3E3.0.co;2-m](https://doi.org/10.1002/1529-0131(199909)42:9%3C1843::aid-anr8%3E3.0.co;2-m)
14. Juvenile idiopathic arthritis classified by the ILAR criteria: HLA associations in UK patients / W. Thomson [et al.] // Rheumatology. – 2002. – Vol. 41, N 10. – P. 1183–1189. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/41.10.1183>
15. Predisposing and protective HLA-DR and -DQ alleles for rheumatoid arthritis in South African mixed-ancestry and Xhosa populations: research letter / J. Rousseau [et al.] // South African Journal of Science. – 2003. – Vol. 99, N 1. – P. 89–91.
16. Simplifying genetic locus assignment of HLA-DRB genes / G. Andersson [et al.] // Immunology Today. – 1994. – Vol. 15, N 2. – P. 58–62. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(94\)90134-1](https://doi.org/10.1016/0167-5699(94)90134-1)

### References

1. Petty R. E., Southwood T. R., Manners P., Baum J., Glass D. N., Goldenberg J., He X., Maldonado-Cocco J., Orozco-Alcala J., Prieur A. M., Suarez-Almazor M. E., Woo P. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *Journal of Rheumatology*, 2004, vol. 31, no. 2, pp. 390–392.

2. Shiina T., Hosomichi K., Inoko H., Kulski J. K. The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. *Journal of Human Genetics*, 2009, vol. 54, no. 1, pp. 15–39. <https://doi.org/10.1038/jhg.2008.5>
3. Matzaraki V., Kumar V., Wijmenga C., Zhernakova A. The MHC locus and genetic susceptibility to autoimmune and infectious diseases. *Genome Biology*, 2017, vol. 18, no. 1, art. 76. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1207-1>
4. Hinks A., Cobb J., Marion M. C., Prahalad S., Sudman M., Bowes J., Martin P., Comeau M. E., Sajuthi S., Andrews R. [et al.]. Dense genotyping of immune-related disease regions identifies 14 new susceptibility loci for juvenile idiopathic arthritis. *Nature Genetics*, 2013, vol. 45, no. 6, pp. 664–669. <https://doi.org/10.1038/ng.2614>
5. HLA. SNPedia. Available at: <https://www.snpedia.com/index.php/HLA> (accessed 03 February 2020).
6. Allele Frequency Net Database. Available at: <http://www.allelefrequencys.net/default.asp> (accessed 03 February 2020).
7. Aksyonova E. A., Martusevich N. A., Sergeichik O. V., Mitkovskaya N. P. The frequency of HLA-DRB1 alleles and genotypes in patients with ACCP antibody-positive rheumatoid arthritis and their nearest relatives. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika* [Molecular and Applied Genetics]. Minsk, 2016, vol. 20, pp. 55–60 (in Russian).
8. Hinks A., Bowes J., Cobb J., Ainsworth H. C., Marion M. C., Comeau M. E., Sudman M., Han B., Becker M. L. et al. Fine-mapping the MHC locus in juvenile idiopathic arthritis (JIA) reveals genetic heterogeneity corresponding to distinct adult inflammatory arthritic diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2017, vol. 76, no. 4, pp. 765–772. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-210025>
9. Hollenbach J. A., Thompson S. D., Bugawan T. L., Ryan M., Sudman M., Marion M., Langefeld C. D., Thomson G., Erlich H. A., Glass D. N. Juvenile idiopathic arthritis and HLA class I and class II interactions and age-at-onset effects. *Arthritis and Rheumatism*, 2010, vol. 62, no. 6, pp. 1781–1791. <https://doi.org/10.1002/art.27424>
10. Angeles-Han S. T., McCracken C., Yeh S., Jang S. R., Jenkins K., Cope S., Bohnsack J., Hersch A., Thompson S. D., Prahalad S. HLA Associations in a Cohort of Children With Juvenile Idiopathic Arthritis With and Without Uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2015, vol. 56, no. 10, pp. 6043–6048. <https://doi.org/10.1167/iovs.15-17168>
11. Salugina S. O. Functional status and quality of life in adult patients with juvenile arthritis during the long-term course of disease. *Sovremennaya revmatologiya = Modern Rheumatology*, 2011, vol. 5, no. 1, pp. 33–39 (in Russian).
12. Prahalad S., Glass D. N. A comprehensive review of the genetics of juvenile idiopathic arthritis. *Pediatric Rheumatology Online Journal*, 2008, vol. 6, no. 1, art. 11. <https://doi.org/10.1186/1546-0096-6-11>
13. Murray K. J., Moroldo M. B., Donnelly P., Prahalad S., Passo M. H., Giannini E. H., Glass D. N. Age-specific effects of juvenile rheumatoid arthritis-associated HLA alleles. *Arthritis and Rheumatism*, 1999, vol. 42, no. 9, pp. 1843–1853. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(199909\)42:9%3C1843::aid-anr8%3E3.0.co;2-m](https://doi.org/10.1002/1529-0131(199909)42:9%3C1843::aid-anr8%3E3.0.co;2-m)
14. Thomson W., Barrett J. H., Donn R., Pepper L., Kennedy L. J., Ollier W. E. R., Silman A. J. S., Woo P., Southwood T. Juvenile idiopathic arthritis classified by the ILAR criteria: HLA associations in UK patients. *Rheumatology*, 2002, vol. 41, no. 10, pp. 1183–1189. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/41.10.1183>
15. Rousseau J., Glaser J., Pokorny L., Creemers P. C. Predisposing and protective HLA-DR and -DQ alleles for rheumatoid arthritis in South African mixed-ancestry and Xhosa populations: research letter. *South African Journal of Science*, 2003, vol. 99, no. 1, pp. 89–91.
16. Andersson G., Andersson L., Larhammar D., Rask L., Sigurdardóttir S. Simplifying genetic locus assignment of HLA-DRB genes. *Immunology Today*, 1994, vol. 15, no. 2, pp. 58–62. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(94\)90134-1](https://doi.org/10.1016/0167-5699(94)90134-1)

## Информация об авторах

Яцкив Анна Андреевна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.yatskiv@igc.by.

Злотникова Мария Владимировна – канд. мед. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220053, Минск, Республика Беларусь). E-mail: typing@blood.by.

Сукало Александр Васильевич – академик, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kafedra.pediatric@yandex.by.

Гончарова Роза Иосифовна – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: R.Goncharova@igc.by.

## Information about the authors

Yatskiu Hanna A. – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.yatskiv@igc.by.

Zlotnikova Maryia V. – Ph. D. (Medicine), Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnology (160, Dolginovskiy tract, 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: typing@blood.by.

Sukalo Alexandr V. – Academician, D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kafedra.pediatric@yandex.by.

Goncharova Roza I. – D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: R.Goncharova@igc.by.